

05sep06 10:33:24 User266881 Session D2763.2  
Sub account: 040990/281003

SYSTEM:OS - DIALOG OneSearch

File 351:Derwent WPI 1963-2006/UD=200656

(c) 2006 The Thomson Corporation

File 345:Inpadoc/Fam.& Legal Stat 1968-2006/UD=200635

(c) 2006 EPO

\*File 345: IPCR/8 classification codes now searchable in 2006 records.  
For important information about IC= index changes, see HELP NEWSIPCR.

S1 1 AN='JP 9644976'  
S2 1 AN='JP 199644976'  
S3 2 S1 OR S2

3/5/1 (Item 1 from file: 351)  
DIALOG(R)File 351:Derwent WPI  
(c) 2006 The Thomson Corporation. All rts. reserv.

0008381752

WPI ACC NO: 1997-497329/

XRAM Acc No: C1997-158020

Production of an intermediate for L-ephedrine - by fermenting yeast of  
Saccharomyces on culture medium comprising pyruvic acid and benzaldehyde to  
give L-phenyl acetyl carbinol product

Patent Assignee: ALPS YAKUHHIN KOGYO KK (ALPS-N); HORIZU H (HORI-I)

Inventor: HORITSU H; OTSUBO T

Patent Family (1 patents, 1 countries)

Patent	Application
Number	Kind Date Number Kind Date Update
JP 9234090	A 19970909 JP 199644976 A 19960301 199746 B

Priority Applications (no., kind, date): JP 199644976 A 19960301

#### Patent Details

Number	Kind	Lan	Pg	Dwg	Filing Notes
JP 9234090	A	JA	4	0	

#### Alerting Abstract JP A

A process for producing L-phenylacetyl carbinol (LPAC) from pyruvic acid and benzaldehyde comprises fermentation of a yeast of Saccharomyces on a culture medium contg. carbon source.

USE - Used for producing L-ephedrine from pyruvic acid and benzaldehyde.

ADVANTAGE - In the prior art, LPAC has been produced from acetaldehyde by reaction with benzaldehyde. The use of acetaldehyde, however, is disadvantageous because it has low boiling point (21(deg) C) and is highly toxic. In the method, such a disadvantage can be avoided by using pyruvic acid as a starting cpd. which is a precursor for acetaldehyde.

Title Terms/Index Terms/Additional Words: PRODUCE; INTERMEDIATE; EPHEDRINE;  
FERMENTATION; YEAST; SACCHAROMYCES; CULTURE; MEDIUM; COMPRISE; PYRUVIC;

ACID; BENZALDEHYDE; PHENYL; ACETYL; CARBINOL; PRODUCT

**Class Codes**

International Classification (Main): C12P-007/24  
(Additional/Secondary): C07C-215/30, C07C-043/18, C12P-013/00,  
C12R-001/865

File Segment: CPI

DWPI Class: B05; D16

Manual Codes (CPI/A-M): B10-B03B; B10-E04D; D05-A04; D05-C

3/39/2 (Item 1 from file: 345)

DIALOG(R) File 345: Inpadoc/Fam. & Legal Stat  
(c) 2006 EPO. All rts. reserv.

13988935

Basic Patent (No, Kind, Date): JP 9234090 A2 970909 <No. of Patents: 001>

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applic No	Kind	Date
JP 9234090	A2	970909	JP 9644976	A	960301 (BASIC)

Priority Data (No, Kind, Date):

JP 9644976 A 960301

PATENT FAMILY:

JAPAN (JP)

Patent (No, Kind, Date): JP 9234090 A2 970909

PRODUCTION OF L-EPHEDRINE INTERMEDIATE (English)

Patent Assignee: ALPS YAKUHIN KOGYO KK; HORITSU HIROAKI

Author (Inventor): HORITSU HIROAKI; OTSUBO TETSUYA

Priority (No, Kind, Date): JP 9644976 A 960301

Applic (No, Kind, Date): JP 9644976 A 960301

IPC: \* C12P-007/24; C07C-043/18; C07C-215/30; C12P-013/00;  
C12R-001-865

CA Abstract No: \* 127(21)292134A; 127(21)292134A

Derwent WPI Acc No: \* C 97-497329; C 97-497329

Language of Document: Japanese

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-234090

(43) 公開日 平成9年(1997)9月9日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 P 7/24			C 1 2 P 7/24	
C 0 7 C 43/18		7419-4H	C 0 7 C 43/18	C
215/30		7457-4H	215/30	
C 1 2 P 13/00			C 1 2 P 13/00	
// (C 1 2 P 7/24				

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 4 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平8-44976	(71) 出願人	393031450 アルプス薬品工業株式会社 岐阜県吉城郡古川町向町2丁目10番50号
(22) 出願日	平成8年(1996)3月1日	(71) 出願人	591164288 堀津 浩章 岐阜県岐阜市長良雄総880番地の63
		(72) 発明者	堀津 浩章 岐阜県岐阜市長良雄総880番地の63
		(72) 発明者	大坪 徹也 岐阜県吉城郡古川町上町145-9
		(74) 代理人	弁理士 青山 葆 (外2名)

(54) 【発明の名称】 レーエフェドリン中間体の製造法

(57) 【要約】

【課題】 サッカロミセス属酵母による発酵法により得られたレーフェニルアセチルカルビノールから、化学的にレーエフェドリンを製造する方法を提供する。

【解決手段】 ビルビン酸およびベンツアルデヒドから、炭素源を含む培地中サッカロミセス属酵母を用いる発酵法によりレーフェニルアセチルカルビノール中間体を製造する方法、さらにこの中間体からレーエフェドリンを製造する方法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ビルビン酸およびベンツアルデヒドから、炭素源を含む培地中、サッカロミセス属酵母を用いる発酵法による $\alpha$ -フェニルアセチルカルビノールの製造方法。

【請求項2】 ビルビン酸およびベンツアルデヒドから、炭素源を含む培地中、サッカロミセス属酵母を用いる発酵法により $\alpha$ -フェニルアセチルカルビノールを得、さらに $\alpha$ -エフェドリンを製造する方法。

【請求項3】 サッカロミセス属酵母が、サッカロミセス・セレビシアである、請求項1または2記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】  $\alpha$ -エフェドリンの発酵法による製造法に関する。より具体的には、サッカロミセス属酵母による発酵法により得られた $\alpha$ -フェニルアセチルカルビノールから、化学的に $\alpha$ -エフェドリンを合成する方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】 麻黄の生理活性物質である $\alpha$ -エフェドリン(1)の製造法を大きく分けると3つある。まずは麻黄より抽出分離する方法、次は全て化学合成法による方法であるが、この化学合成法には中間体フェニルアセチルカルビノール(2)の生成の際に、DおよびL(エル)の両立体異性体が合成され、収率が半減する欠点がある。

【0003】そして3番目は酵母を用い中間体フェニルアセチルカルビノール(2)を生成させ、ついで化学合成法により $\alpha$ -エフェドリン(1)を生成させるものである。この方法は、酵母(酵素の働きを有する)を用いてベンツアルデヒド(3)とアセトアルデヒド(4)から $\alpha$ -エフェドリン(1)の中間体であるフェニルアセチルカルビノール(2)を生成させるものである。この酵母によって(2)を生成させる方法には古くノイベルグによる方法、そしてその後も2つの方法が報告されているが、いずれも上述の前駆中間体(3)と(4)の結合方法である。前駆中間体(3)および(4)を用いた優れた方法ではある。

【0004】しかし、問題がないわけではない。即ち特にアセトアルデヒド(4)はその沸点が21℃と低いこと、そして毒性が強いため、出発材料としては先ず、温度の管理などの注意が必要である。もう1つの問題とし

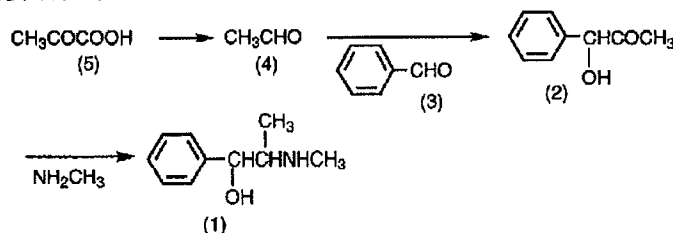
て、アセトアルデヒドの毒性は酵母に対しても問題である。この点を改善することは当然考えられるが、その毒性を低下させる目的で麦芽エキスパウダー、ホエー、VB1等の添加が提案されているが、そのうち麦芽エキスについてはその有効性が確認されているものの、他の添加物の有効性は甚だ低いことが本発明者らの追試でも明らかにされた。特に麦芽エキスパウダーの添加効果が優れていることは本発明者らの追試で明らかにされているが、麦芽エキスパウダーは高価であると共に、その効果も時には無いという安定したものではない欠点がある。また、上述の方法は優れた方法ではあるが収量が甚だ低いこと、またその反応実験で殆ど生成物ができないこともあり、その製造法は不安定であるのが欠点である。

【0005】そこで、本発明者らは中間体フェニルアセチルカルビノール(2)の $\alpha$ -型のみを発酵法により生成させることを検討した。発酵法による(2)の生成法についてはすでにドイツのノイベルグ法(C. Neuberg, Heinz Ohle; Biochemische Zeitschrift Band, 128, 610(1992))を始め、他の1つの特許が発表されている。それらの生合成法はいずれもパン酵母を用い、モラセス培地にてあらかじめパン酵母を活性化させた時点で(2)の前駆体であるベンツアルデヒド(3)とアセトアルデヒド(4)の両者を添加生成させる方法である。しかるに、この方法では(2)の生成収率が反応条件により大きく左右される。

【0006】さらに、既述のようにアセトアルデヒド(4)が低沸点であり、その反応は低温下で行わねばならないこと、およびアセトアルデヒドは毒性が強いため、この反応に対しては、その毒性を低減化させる方法を講じなければならない。その対策として従来の方法では特に保護物質を加えた。そのうち、麦芽エキスパウダーを反応液に添加する方法がある(Otakar Cervinka, Vladimir S truzka; Collect. Czech. Chem. Commun., 55, 2685(1990))。この麦芽エキスは優れた安定剤または保護物質であることは実証されたが、しかし時には添加したにもかかわらず、目的の生成物ができないことも多かった。また麦芽エキスは価格も高く実用化に際しては問題がある。そこで、本発明者らは収率の良好な $\alpha$ -エフェドリン(1)の製造法を鋭意追究した。

## 【0007】

## 【化1】



そして、前駆中間体アセトアルデヒド(4)のさらに前駆

物質であるビルビン酸(5)を用い酵母のビルビン酸デカ

ルボキシラーゼとその補酵素であるビタミンB<sub>1</sub>を添加することによりフェニルアセチルカルビノール(2)の生産を効率良く、しかも容易に生成させ得るとの知見を得た。本発明はこのような知見に基づいて完成されたものである。

#### 【0008】

【課題を解決するための手段】本発明の第1の態様は、ビルビン酸(5)およびベンツアルデヒド(3)から、炭素源を含む培地中サッカロミセス属酵母を用いる発酵法によるL-フェニルアセチルカルビノール(2)の製造方法であり、本発明の第2の態様は、さらに、続けて、L-エフェドリン(1)を合成する方法である。

【0009】本発明の特徴は、酵母によりビルビン酸(5)からアセトアルデヒド(4)を生成させ、この培地中に直接ベンツアルデヒド(3)を加えることにより、常温で、しかもアセトアルデヒドの毒性を考慮する必要もなく、高収量で目的物のL-フェニルアセチルカルビノール(2)を生成することが出来ることにある。さらに、具体的に説明すると、まず、アセトアルデヒド(4)の代わりにビルビン酸(5)を添加することである。そもそもビルビン酸(5)は酵母が有するビルビン酸デカルボキシラーゼにより、上述のアセトアルデヒドが酵母菌体内で生成される。この際、アセトアルデヒド(4)は酵母自体によって産生されるため、その生成濃度は人工的に添加する場合と異なり、酵母の生育、代謝を害することなく、産生されるという点である。本発明者らはこの点に注目し従来の方法とは異なり、酵母培養液に前もってビルビン酸(5)を添加したことである。また、上述の酵母のビルビン酸からアセトアルデヒドを生成させるビルビン酸デカルボキシラーゼの働きに必要な補酵素であるVB<sub>1</sub>を添加した培地に酵母を生育させながらベンツアルデヒドを加えてもよい。

#### 【0010】

【発明の実施の形態】炭素源は、糖蜜(モラセス)、グルコース、スクロースのいずれでもよい。使用する酵母はサッカロミセス属の酵母またはジモモナス属の細菌であり、サッカロミセス属酵母としては、サッカロミセス・セレビシアエ(*Saccharomyces cerevisiae*)、サッカロミセス・エリプソイデウス(*Saccharomyces ellipsoideus*)、サッカロミセス・カールスベルゲンシス(*Saccharomyces carlsbergensis*)、サッカロミセス・ホルモセンシス(*Saccharomyces formosensis*)などを挙げることができ、好ましくは、サッカロミセス・セレビシアエである。ジモモナス属細菌としては、ジモモナス・モビリス(*Zymomonas mobilis*)を挙げることができる。

【0011】L-フェニルアセチルカルビノール(2)の製造法

フェニルアセチルカルビノールの製造法は、例えば、モラセスまたはグルコース、スクロースいずれかの炭素源を含み、約5～15重量%、好ましくは約10重量%の

糖濃度の酵母培養液に、付加物としてはリン酸カリ0.05～0.2重量%、好ましくは約0.1重量%、硫酸マグネシウム0.01～0.1重量%、好ましくは、約0.05重量%、硫酸アンモン0.1～1.0重量%、好ましくは約0.3重量%を加える。これに、ビルビン酸0.1～1.0重量%、好ましくは0.5～5%、より好ましくは、0.7～2%、最も好ましくは約1%を加え、pHを4.0～6.0、好ましくはpH5.0にした後、VB<sub>1</sub>を0.01～0.1重量%好ましくは約0.02重量%添加した後、酵母を0.1～2.0重量%、好ましくは、1～1.5重量%、より好ましくは、2～1.0重量%、最も好ましくは4～7重量%加え前発酵として約1時間、温度を20～40℃、好ましくは約25～32℃に、より好ましくは約30℃に保ちながら攪拌を行う。

【0012】ついでベンツアルデヒドを、5.0～5.5重量%、好ましくは5.2重量%を添加する。その後3～10時間、好ましくは5～6時間更に発酵を続ける。発酵が完了した時点で反応液を冷却した後、エーテルで十分抽出する。抽出は例えば3回行う。エーテル抽出液は一緒にした後硫酸ソーダで脱水し、エーテル抽出液を濃縮する。その後、減圧で蒸留し、5mmHg70～90℃の留分を集める。なお、炭素源としてはモラセスを用いる時にはVB<sub>1</sub>を添加しなくてもよい。

【0013】本発明の製造方法により得られたL-フェニルアセチルカルビノール(2)から通常用いられる合成方法により、最終目的物質であるL-エフェドリン(1)を製造する。

#### 【0014】

##### 【実施例】

##### 実施例1

L-フェニルアセチルカルビノール(2)の製造法

モラセス約10%糖濃度とする酵母培養液(480ml)に付加物として、リン酸カリ0.5g、硫酸マグネシウム0.25g、硫酸アンモン1.6gを加えた。ついでビルビン酸5gを加えpH5.0にした後、VB<sub>1</sub>を0.1g添加した後、パン酵母を2.5g加え前発酵として約1時間30℃で攪拌を行った。ついでベンツアルデヒド5ml(5.22重量%)を1滴ずつ1時間かけて滴下添加する。その後5時間更に発酵を続けた。発酵が完了した時点で反応液を冷却した後、同量のエーテルでフェニルアセチルカルビノールの抽出を3回行い十分抽出した。エーテル抽出液は一緒にした後硫酸ソーダで脱水した後、エーテル抽出液を濃縮した。その後、減圧で蒸留し、5mmHg70～90℃の留分を集めた。約2～5mlの蒸留部が得られた。この蒸留部を用いガスクロマトグラフィー・マススペクトログラフィーにより目的物であるフェニルアセチルカルビノールが生成していることを確認した。収量は10%であった。

##### 【0015】実施例2

エフェドリン(1)の製造法

実施例1で得られたフェニルアセチルカルビノール1.5gに酢酸ブチル1.25g、10.8%メチルアミンメタノール溶液5.2g、アダムス酸化白金8.9g、及びメタ

ノール15ml存在下、3気圧水素接触還元を行った。281.4mgの生成物をメタノールに溶かしHPLCで分析した結果、エフェドリンが確認された。

---

フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 R 1:865)				
(C 1 2 P 13/00				
C 1 2 R 1:865)				